

## IMPROVEMENT IN ORGANIC COMPOUND

**Publication number:** JP6228122 (A)

**Publication date:** 1994-08-16

**Inventor(s):** MAIKERU MORISU DOREIFUYUSU; ARUBERUTO ROITOBUIRAA; ANDORIYUU ROORANDO MATSUKENJI; IERUKU SHIYUNAIDAA; RENE PAURU TORAABAA; ANRI MATSUTO

**Applicant(s):** SANDOZ AG

**Classification:**

- **international:** A61K31/365; A61P1/00; A61P9/10; A61P17/00; A61P29/00; C07D313/00; C12P17/08; A61K31/365; A61P1/00; A61P9/00; A61P17/00; A61P29/00; C07D313/00; C12P17/02; (IPC1-7): C07D313/00; A61K31/365

- **European:** C07D313/00; C12P17/08; C12R1/645

**Application number:** JP19930303866 19931203

**Priority number(s):** GB19920025396 19921204

**Also published as:**

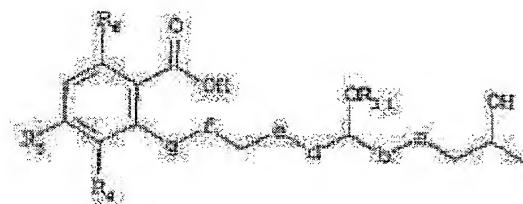
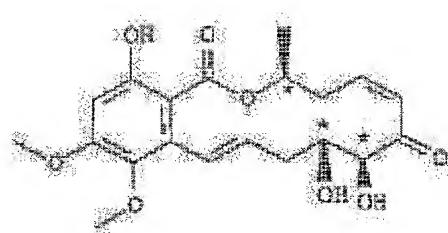
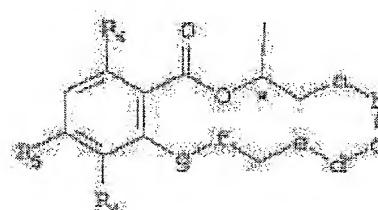
- EP0606044 (A1)
- PL301281 (A1)
- NZ250344 (A)
- NO934372 (A)
- CZ9302614 (A3)

[more >](#)

Abstract not available for JP 6228122 (A)

Abstract of corresponding document: **EP 0606044 (A1)**

Novel compounds of formula I <CHEM> wherein R4, R5, R6, -a-b-, c, -d-e- and -f-g- are as defined are cytokine release inhibitors and IL-1 antagonists and are thus indicated for treatment of disorders with an aetiology associated with or comprising excessive cytokine release, particularly IL-1 beta release, including a wide variety of inflammatory states and diseases such as RA, osteoarthritis, septic shock, psoriasis, atherosclerosis, inflammatory bowel disease, Crohn's disease and asthma. Related known compounds Zearalenone and radicicol and derivatives thereof have also been found to have cytokine release inhibitor properties and have similar pharmaceutical applications.



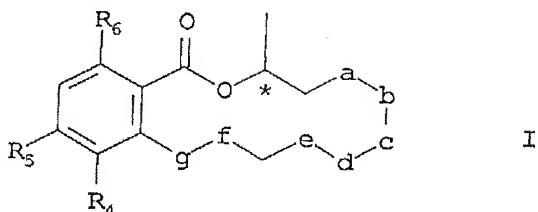
Data supplied from the **esp@cenet** database — Worldwide



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】 式 I

## 【化1】



〔式中、R<sub>4</sub>およびR<sub>6</sub>は同一又は異なって、H、OH、C<sub>1-4</sub>アルコキシ又はC<sub>1-4</sub>アルキルCOOーであり、R<sub>5</sub>はOH、C<sub>1-4</sub>アルコキシ又はC<sub>1-4</sub>アルキルCOOーであり、-a-b-と-d-e-の一つは-CHR<sub>7</sub>-CHR<sub>8</sub>-であり、他はシス又はトランス-CR<sub>7</sub>=CR<sub>8</sub>-（式中、R<sub>7</sub>及びR<sub>8</sub>は同一又は異なって、H、OH、C<sub>1-4</sub>アルコキシ又はC<sub>1-4</sub>アルキルCOOーである）であり、cはCH-OH又はC=Oであり、-f-g-は-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-或はシス又はトランス-CH=CH-である。但し、R<sub>4</sub>がH、R<sub>6</sub>がOHそして-f-g-がトランス-CH=CH-であるとき、1.-a-b-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-で、cがC=Oで、-d-e-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-である場合には、R<sub>5</sub>はOHではなく、又は2.-a-b-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-又はシス-CH=CH-で、cがC=O又はCH-OHで、-d-e-が-CHOH-CHOH-である場合には、R<sub>5</sub>はメトキシではない〕の遊離形又は塩形の或は生理的に加水分解可能且つ許容しうるエステル形の化合物（星印を付した不斉炭素並びに原子a及び/b又はd及び/e又はeは、これらが不斉炭素原子のとき、R-又はS-コンフィギュレーションであるか、或は化合物はその

光学異性体の混合物を含む）。

【請求項2】 R<sub>4</sub>及びR<sub>6</sub>が同一又は異なって、H、OH、MeO-又はMe-COO-であり、R<sub>5</sub>が-OH、MeO-又はMeCOO-であり、-a-b-がシス又はトランス-CR<sub>7</sub>'=CR<sub>8</sub>'-（式中、R<sub>7</sub>'及びR<sub>8</sub>'は同一又は異なって、H、OH、MeO-又はMe-COO-である）であり、-d-e-が-CHR<sub>7</sub>'-CHR<sub>8</sub>'-（式中、R<sub>7</sub>'及びR<sub>8</sub>'は前記と同意義である）である、請求項1の化合物。

【請求項3】 R<sub>4</sub>がH又はMeOであり、R<sub>5</sub>がMeOであり、R<sub>6</sub>がOH又はMeOであり、-a-b-がシス又はトランス-CH=CH-であり、-d-e-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-又は-CHOH-CHOH-であり、-f-g-がトランス-CH=CH-である、請求項2の化合物。

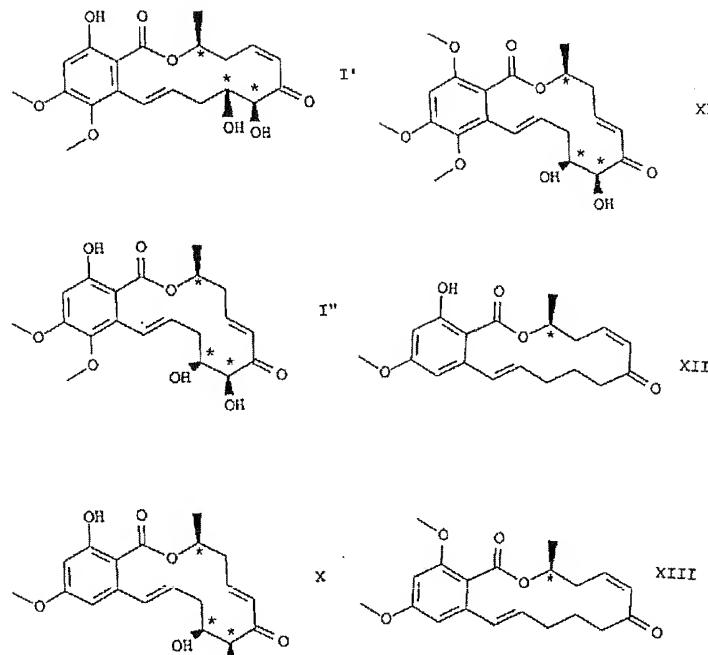
【請求項4】 R<sub>4</sub>がH又はメトキシであり、R<sub>5</sub>がメトキシであり、R<sub>6</sub>がOHであり、-a-b-がシス又はトランス-CH=CH-であり、cがCHOH又はC=Oであり、-d-e-が-CHOH-CHOH-であり、-f-g-がトランス-CH=CH-である（但し、-a-b-がシス-CH=CH-のとき、R<sub>4</sub>はメトキシで、cはC=Oである）、遊離形又は塩形の、或は生理的に加水分解可能且つ許容しうるエステル形の式Iの化合物。

【請求項5】 -a-b-がトランス-CH=CH-である、請求項1～4のいずれかの化合物。

【請求項6】 不斉炭素原子の全てがS-コンフィギュレーションである、請求項1～5のいずれかの化合物。

【請求項7】 式I'、I''、X、XI、XII又はXIIIの化合物。

## 【化2】



【請求項8】 87-250904-F 1生産性真菌株を培養し、生産された87-250904-F 1を分離することを特徴とする、式I'の化合物の製造法。

【請求項9】 真菌株がN R R L 1 8 9 1 9である、請求項8の製造法。

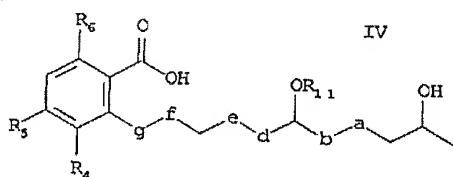
【請求項10】 真菌株N R R L 1 8 9 1 9。

【請求項11】 真菌株N R R L 1 8 9 1 9の培養により得られる発酵プロセス。

【請求項12】 緩和なアルカリ性条件下に対応するシス異性体を異性化することを特徴とする、-a-b-がトランス-C H=C H-である、式Iの化合物の製造法。

【請求項13】 式IV

【化3】



(式中、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>、-a-b-、-d-e-及び-f-g-は、-a-b-又は-d-e-上のOH置換基の少なくともいずれかが適当に保護された形であることを除いては請求項1で定義した通りであり、R<sub>11</sub>はH又はOH保護基である)の化合物を環化させ、次いでOH保護基を除去することを特徴とする、cがCHOHである式Iの化合物の製造法。

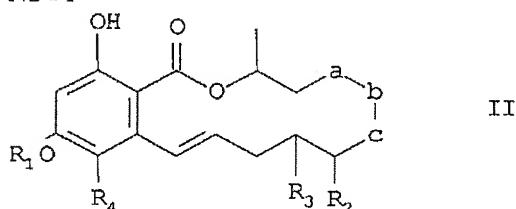
【請求項14】 cがCHOHである式Iの化合物のc CHO基を酸化することを特徴とする、cがC=O

である式Iの化合物の製造法。

【請求項15】 a) 請求項1の化合物、又は

b) 式II

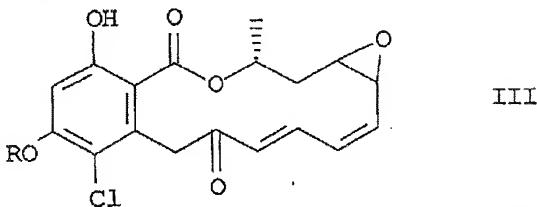
【化4】



(式中、R<sub>1</sub>はH又はメチルであり、R<sub>2</sub>及びR<sub>3</sub>はH又はOHであり、R<sub>4</sub>はH又はメトキシであり、-a-b-は-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-又は-CH=CH-であり、cはC=O又はCH-OHである(請求項1の化合物以外))の化合物、又は

c) 式III

【化5】



(式中、RはH又はメチルである)の化合物の有効量を、遊離形又は塩形、或はその生理的に加水分解可能で且つ許容しうるエステル形で投与することを特徴とする、過剰のサイトカイン放出、特にIL-1β放出に関

連した又はこれを含む、病菌を伴う疾病、例えばリューマチ様関節炎、骨関節炎、敗血症ショック、乾癬、アテローム性動脈硬化症、非特異性炎症腸疾患、クローン病又は喘息の処置方法。

【請求項16】  $R_1$ がメチルであり、 $R_2$ 及び $R_3$ がH又はOHであり、 $R_4$ がH又はメトキシであり、-a-b-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-又はシス-CH=CH-であり、cがC=O又はCH-OHである、請求項15で述べた式IIの遊離形又は塩形の或は生理的に加水分解可能で且つ許容しうるエステル形の化合物。

【請求項17】 請求項1の化合物を含む医薬組成物。  
【請求項18】  $R_1$ がメチルであり、 $R_2$ 及び $R_3$ がH又はOHであり、 $R_4$ がH又はメトキシであり、-a-b-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-又はシス-CH=CH-であり、cがC=O又はCH-OHである、請求項15で述べた式IIの遊離形又は塩形の或は生理的に加水分解可能で且つ許容しうるエステル形の化合物を含む医薬組成物。

#### 【発明の詳細な説明】

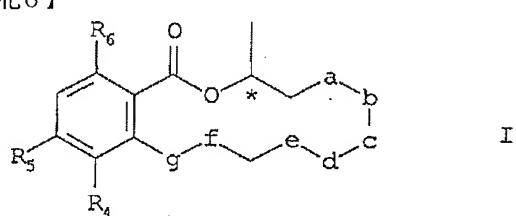
##### 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、サイトカイン放出阻害剤及びIL-1拮抗物質として有用な化合物に関する。

##### 【0002】

【技術の技術及び発明が解決しようとする課題】本発明は式I

##### 【化6】



〔式中、 $R_4$ および $R_5$ は同一又は異なって、H、OH、C<sub>1-4</sub>アルコキシ又はC<sub>1-4</sub>アルキルCOO-であり、 $R_6$ はOH、C<sub>1-4</sub>アルコキシ又はC<sub>1-4</sub>アルキルCOO-であり、-a-b-と-d-e-の一つは-CHR<sub>7</sub>-CHR<sub>8</sub>-であり、他はシス又はトランス- $CR_7=CR_8$ -（式中、R<sub>7</sub>及びR<sub>8</sub>は同一又は異なって、H、OH、C<sub>1-4</sub>アルコキシ又はC<sub>1-4</sub>アルキルCOO-である）であり、cはCH-OH又はC=Oであり、-f-g-は-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-或はシス又はトランス-CH=CH-である。但し、R<sub>4</sub>がH、R<sub>6</sub>がOHそして、-f-g-がトランス-CH=CH-であるとき、1.-a-b-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-で、cがC=Oで、-d-e-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-である場合には、R<sub>5</sub>はOHではなく、又は2.-a-b-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-又はシス-CH=CH-で、cがC=O又はCH-OHで、-d-e-が-CHOH-CHOH-である場合には、R<sub>5</sub>はメトキシではない〕の遊離形又は塩形の或は生理的に

加水分解可能で且つ許容しうるエステル形の化合物（星印を付した不斉炭素並びに原子a及びb又はd及びeは、これらが不斉炭素原子のとき、R-又はS-コンフィギュレーションであるか、或は化合物はその光学異性体の混合物を含む）で提供する。

【0003】好ましくは、 $R_4$ 及び $R_6$ は同一又は異なって、H、-OH、MeO-又はMe-COO-である。好ましくは $R_5$ は-OH、MeO-又はMeCOO-である。より好ましくは $R_4$ はH又はMeOであり、 $R_5$ はMeOで、 $R_6$ はOH又はMeOである。

【0004】好ましくは、-a-b-はシス又はトランス- $CR_7=CR_8$ -（式中、R<sub>7</sub>'及びR<sub>8</sub>'は同一又は異なって、H、OH、MeO-又はMe-COO-である）である。より好ましくは-a-b-はシス又は特にトランス-CH=CH-である。

【0005】好ましくは、-d-e-は-CHR<sub>7</sub>-CHR<sub>8</sub>-（式中、R<sub>7</sub>'及びR<sub>8</sub>'は上記定義と同じである）である。より好ましくは-d-e-は-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-又は特に-CHOH-CHOH-（式中、OH基は遊離又は保護形でありうる）である。

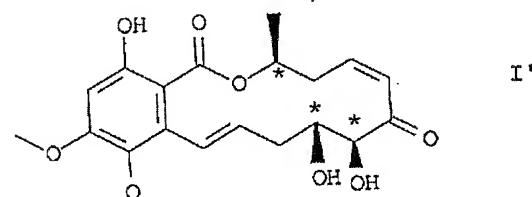
【0006】最も好ましくは、-f-g-はトランス-CH=CH-である。

【0007】好ましくは、本発明の化合物の不斉炭素原子は全てS-コンフィギュレーションである。

【0008】実施態様において、本発明は、 $R_4$ がH又はメトキシであり、 $R_5$ がメトキシであり、 $R_6$ がOHであり、-a-b-がシス又はトランス-CH=CH-であり、cがCHOH又はC=Oであり、-d-e-が-CHOH-CHOH-であり、そして-f-g-がトランス-CH=CH-である。（但し、-a-b-がシス-CH=CH-のとき $R_4$ はメトキシでcはC=Oである）式Iの化合物を、遊離形又は塩基塩形で或は生理的に加水分解可能で許容しうるエステルの形で提供する。

【0009】式Iにおいて、 $R_4$ と $R_5$ がメトキシであり、 $R_6$ がOHであり、-a-b-がシス-CH=CH-であり、cがC=Oであり、-d-e-が-CHOH-CHOH-であり、-f-g-がトランス-CH=CH-であり、星印を付した不斉炭素原子が全てS-コンフィギュレーションである、式I'

##### 【化7】



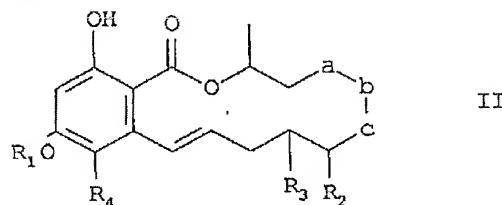
は87-250904-F1と名付けられた新規な代謝産物とされて来た構造で、以下の性質を有する。

【0010】白色針結晶（メタノール／水1：1から）

融点173-174°C、  
 $[\alpha]_D^{25} = -43.6^\circ$  (MeOH, c=0.76)  
 マススペクトル (FAB) : m/e = 393 ( $MH^+$ )  
 KBr中IRスペクトル: 図1参照  
 $CDCl_3$ 中プロトンNMR、内部標準としてTMSにより360MHz、図2参照。  
 【0011】溶解性: 水にほとんど不溶、メタノール、DMSO、クロロホルムに易溶。  
 HPLC: カラム リクロスマート 100 RP-8 (5μm) (リクロカルト 125-4、メルク)  
 移動相: アセトニトリル/水/オルトリン酸 350:650:0.175 (容量)  
 流速: 1.0ml/分  
 検出: UV 210nm  
 保持時間: 3.8分

【0012】式Iの化合物は、新規化合物で、ゼアラレノンと同じクラスの化合物で、これは式II

【化8】

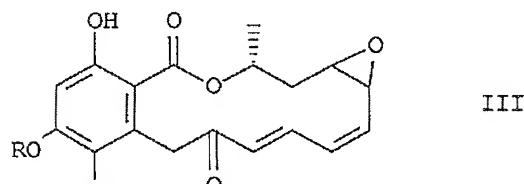


(式中、 $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$ 、 $-a - b - = -CH_2 - CH_2 -$ で $c = C = O$ である)の化合物である。ゼアラレノンは同化効果を有することが知られる。 $R_1$ がメチルであり、 $R_2 = R_3 = OH$ 、 $R_4 = H$ 、 $-a - b - = CH_2 - CH_2 -$ 又はシス- $CH = CH -$ 及び $c = C = O$ 又は $CH - OH$ の式IIの化合物は、エレスタド等により記載され、ジャーナル・オブ・オーガニック・ケミストリィ (J.Org.Chem. 43, 2339(1978))、そこで、これらには「特に興味のある活性」はないと述べており、そしてフェノールエーテル (即ち、ベンゼン環上のメトキシ基) の存在はこの活性の欠陥に関与しうると考えられている。

【0013】このことを考慮すると、式Iの化合物が薬理活性を有することは驚くべきことである。

【0014】式Iの化合物は、又、式III

【化9】



(式中、RはHである)の化合物である、化合物ラディシコールと関連する。Rがメチルである対応するメトキシ化合物も知られている。

【0015】モノスボリウム・ボノルデンの代謝産物、ラディシコールは、抗菌作用を有することが知られている (デルモット、ネイチャー (Nature) 171, 344 (1953))。

【0016】驚くべきことに、上記の化合物、即ち式Iの新規化合物、ラディシコール、O-メチルラディシコール及びエレスタド等により記載されたゼアラレノン誘導体も、サイトカイン放出阻害剤特性を有し、特にこれらは、IL-1、IL-6及びTNF- $\alpha$ の放出を阻害し、IL-1の機能的拮抗物質として作用することが明らかになった。

【0017】

【課題を解決するための手段】式I'の化合物は、栄養培地中、生成微生物株を培養することにより生成しうる。好ましい微生物は分生子殼 (pycnidial) 不完全菌、特に代謝産物 87-250904-F1 を生成する F/87-250904 株である。

【0018】本株は、南アフリカで採取された未分類の地衣から分離され、その株の生培養菌は 1991 年 11 月 6 日、米国イリノイ州の、ARS パテント・カルチャー・コレクション、US デパートメント・オブ・アグリカルチャー、ノーザン・レジオナル・リサーチ・センターに、ブダペスト条約の規定の下に寄託され、寄託番号 NRRL 18919 が与えられた。培養株は、又、スイス、バーゼル、サンド株式会社から得られうる。

【0019】真菌株 NRRL 18919 は最も普通の真菌寒天培地、例えば 2% 麦芽エキス寒天上に生育する。生育の温度範囲は、約 5ないし 37°C で、生育至適温度は約 24ないし 32°C である。ペトリ皿の 2% 麦芽エキス寒天に 27°C で、NRRL 18919 株は 10 日の培養後、直径 25ないし 35mm のコロニーを形成する。コロニーは、緩やかに発達する気菌系と共に褐色ないし緑黒色ないし黒色に見える。これらの条件下では、報告するような拡散される色素は形成しない。NRRL 18919 株は澱粉及びケラチン分解できるが、ごく限られた程度セルロース及びキチンに分解するか又は分解しない。

【0020】NRRL 18919 株の分生子殼は、形及び大きさが非常に変わる。それらは単一孔を有する約 30μm 大の球形ないしセイヨウナシ形から、幾つかの孔を有する、不規則な形の 600μm までの大きさの分生子殼又は分生子殼コンプレックスまで及ぶ。分生子殼外壁は褐色壁から成る。分生子はガラス様無隔膜、小棒状、腎臓状ないしソーセージ形であり、しばしば 3.0-5.5 × 1.0-1.7 μm 大に収縮する。分生子は、細長いフィリドにより分生子殼内に生成し、白っぽい固まりで小孔の外側に集合する。NRRL 18919 株はフォマ・サク (Phoma Sacc.) 属に最もよく適応し、フォマ・カバ (Phoma cava.) シュルザーの記載に非常によく合う。



【0021】新規N R R L 18919株は、適當な栄養素とミネラル物質を用いる種々の培地中、好気表面又は浸漬培養として、適當な温度で培養しうる。本発明は、又、87-250904-F1生成真菌株、特にN R R L 18919株の培養により得られる発酵プロセスをも提供する。本発明の次の局面は、87-250904-F1-生成真菌株を培養すること、及び形成した代謝産物87-250904-F1を分離することを含む、式Iの化合物の製造法を提供する。

【0022】発酵培地は、炭素の利用可能な根源並びに所望によりミネラル塩及び成長因子を含むべきであり、これらの全ては、よく明示された形で又は種々の起源の生物学的生成物に見出されるような複合体混合物として添加できる。

【0023】新規代謝産物87-250904-F1を生成させるために、紫外線放射X線の影響下での淘汰又は変異により、或は他の手段例えれば化学的変異誘発物質により得られる株も用いうる。

【0024】十分量の代謝産物が培地中に蓄積されたならば直ちに慣用方法により、例え抽出及び続くクロマトグラフィ方法により、濃縮し、分離しうる。

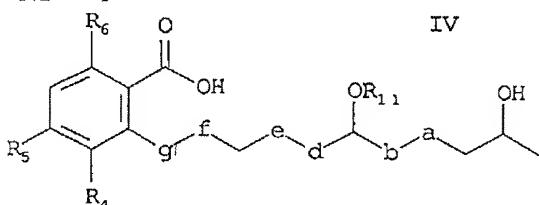
【0025】a-bがトランス-CH=CH-である式Iの化合物はa-bがシス-CH=CH-である対応する化合物から、温和なアルカリ条件下、例えビリジン溶液中、適当には0ないし80°Cで、好ましくは約50°Cで12~48時間、異性化することにより製造しう

る。

【0026】式Iの化合物は、又、慣用の合成技術を用い完全又は部分化学合成により製造しうる。

【0027】従って、次の局面では、本発明はcがCHOHである式Iの化合物の製造法を提供し、それは、式IV

【化10】

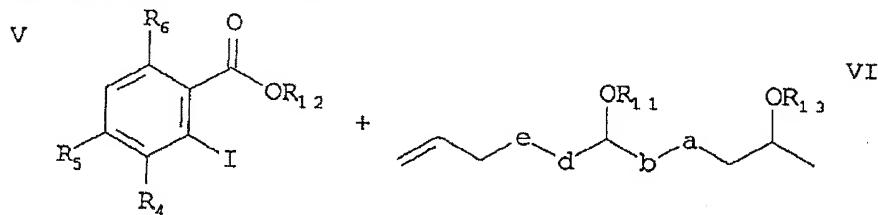


(式中、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>、-a-b-、-d-e-及び-f-g-は、-a-b-又は-d-e-上のOH置換基の少なくともいずれかが適当に保護形であることを除いては上記定義の通りであり、R<sub>11</sub>はH又はOH保護基である)の化合物を環化すること、及びOH保護基を除去することを含む。

【0028】cがC=Oである式Iの化合物は環化された生成物から、cにおけるCHOH基の酸化により製造しうる。

【0029】-f-g-がトランス-CH=CH-である式IVの化合物は、式V及び式VI

【化11】



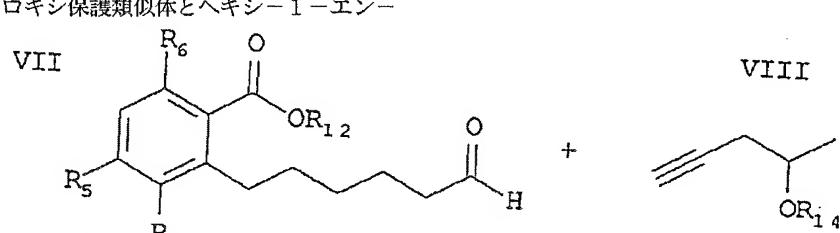
(式中、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>、R<sub>11</sub>、-a-b-、-d-e-及び-f-g-は式IVについて定義した通りであり、R<sub>12</sub>及びR<sub>13</sub>はOH保護基である)の化合物を結合すること及びR<sub>12</sub>及びR<sub>13</sub>がOH保護基のときこれを除去することにより製造しうる。

【0030】式中VIの化合物は、4-ヒドロキシブト-1-インのヒドロキシ保護類似体とヘキシ-1-エン-

5-オンとを結合すること、アセチレン結合を部分的に又は完全に還元すること、及びふさわしくはR<sub>11</sub>OH保護基を付することにより製造しうる。

【0031】-f-g-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-である式IVの化合物は、式VII及びVIII

【化12】



(式中、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>及びR<sub>12</sub>は式IV及びVにおいて定義した通りであり、R<sub>14</sub>はOH保護基である)の化合物を結合すること、アセチレン結合を部分的に又は完

全に還元すること、及びふさわしくはOH保護基を除去することにより製造しうる。

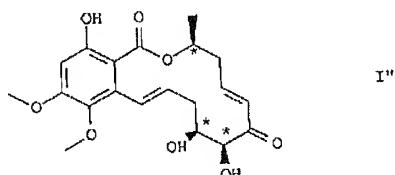
【0032】式VIIの化合物は、上記の通りの式Vの化

合物と6-ヒドロキシ-ヘキシ-1-エンのヒドロキシ保護類似体とを結合すること、式Iのf-gに対応するアルキレン結合を還元すること、C<sub>6</sub>側鎖の末端ヒドロキシ基から保護基を除去すること、及びこのヒドロキシ基をアルデヒド基に酸化することにより製造しうる。

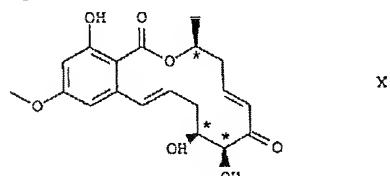
【0033】上記の方法は、例えば以下の実施例に記載したように、慣用の合成手段、試薬及び条件を用い実施しうる。

【0034】a-bがトランス-CH=CH-である好ましい化合物は、式I''、X及びXIの化合物である。

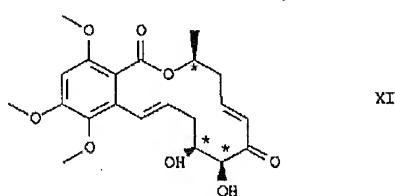
【化13】



【化14】

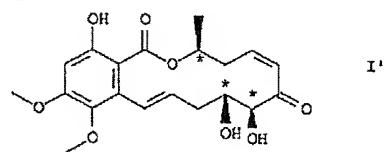


【化15】

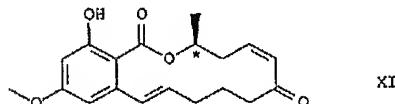


【0035】a-bがシス-CH=CH-である好ましい化合物は、式I'、XII及びXIIIの化合物である。

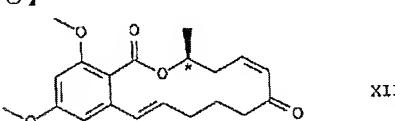
【化16】



【化17】



【化18】



### 【0036】

【発明の効果】本発明の化合物は薬理的性質を有する。特に、IL-1、IL-6及びTNF- $\alpha$ の放出を阻止するだけでなく、以下に示すようにインビトロサイトカイン阻害効果を示す。

### 【0037】

1. THP-1細胞からサイトカインの放出  
THP-1細胞系は一般に入手可能であり、ツキヤ等、インターナショナル・ジャーナル・オブ・キャンサー (Int. J. Cancer) 26、171-176(1980)に記載される。900  $\mu$ l THP-1細胞 (0.5 × 10<sup>6</sup>細胞) 並びに1000 U r-インターフェロン/0.9 ml RPMI 1640培地 (2mM L-グルタミン及び5%) 加熱不活性化ウシ胎児血清含有) をピペットで24ウエル培養皿に入れる。次いで試験すべき化合物100  $\mu$ lを加える。5% CO<sub>2</sub>/95% 空気中、37°Cで3時間後、10  $\mu$ lリポ多糖500  $\mu$ g/mlを加え、インキュベーションをさらに40時間続ける。適当なコントロール(刺激し又はすることなく、溶媒)も含まれる。次いで培養物を1000 gで10分間遠心することにより除去し清澄にする。1.0 mlジギトニン0.01%をウエルに加えて、ゴムポリスマンでこすることによりほぐした細胞を溶解し4°Cで10分間放置する。次いで乳酸デヒドロゲナーゼ測定を直ちに実施し、試料は他の測定をするまで-20°Cで保存する。検定はIL-1 $\beta$ (培地及び溶解物)、IL-6(培地)、TNF- $\alpha$ (培地)、PGE2(培地及び溶解物)、乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)(培地及び溶解物)及びDNA(溶解物)である。IL-1 $\beta$ 、IL-6及びTNF- $\alpha$ 検定は商業的に入手可能なELISAキット(シストロン)を用い測定し、PGE2は標準的RIAを用い測定しDNAはDAPI(4',6-ジアミノ-2-フェニルインドール・2HCl)を用い蛍光定量的に行う。

【0038】この試験で、本発明の化合物は、約0.01ないし10  $\mu$ Mの濃度で、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 及びPGE2放出を阻害する。対照的に、DNAレベルは実質的に影響されずにそのままであり、LDH放出は変わらないので化合物は無毒性である。

### 【0039】2. ヒト単該球からのサイトカイン放出

#### 【0040】a) ヒト単該球

単該細胞を、遠心及び種々の濃度の試験化合物と組織培養皿上の培養により健康なボランティアの血液から得る〔シュナイダー等、エイジェンツ・アンド・アクションズ、30、350-362(1990)〕。非粘着性リンパ球を4時間後、数回洗浄することにより除去する。新鮮な培地、試験化合物及び促進剤としてLPS(10  $\mu$ g/ml)を加え、単該球をさらに1日インキュベートする。集めた培養培地を新鮮な培地で1:10に希釈し、融合ウサギ軟骨細胞に加える。軟骨細胞培養培地中のメタロープロテナーゼ(MP)活性をさらに2日後、下記のように測

定する。本発明の化合物は、0.001ないし10 $\mu$ Mのオーダーの濃度で本試験方法においてモノカイン放出を制御するのに有効である。

【0041】b) 軟骨細胞試験によるIL-1の測定  
精製IL-1、組換えヒトIL-1- $\beta$ (rhIL-1)又は活性化ヒト単球から収集した調整培地、マウスマクロファージ又はマウス細胞系P388D<sub>1</sub>は、軟骨細胞の分泌パターンで特徴的变化を生ずる。特に、潜在金属プロテインナーゼ(MP)は増加し、これに対しプラスミノーゲンアクチベーターの分泌は減少する。メタロプロテインナーゼ又はストロメリシンの性質は詳細に記載され〔チン等、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリィ(J.Biol.Chem.)260、12367-12376(1985)〕、同様にプラスミノーゲンアクチベーターの性質も記載されている〔シュナイダー等、アナリティカル・バイオケミストリィ(Analyt.Biochem.)200、156-162(1992)〕。精製又は組換えIL-1及びヒト単球IL-1に対する抗体による中和を用いる用量反応曲線は、この系がIL-1の特異的且つ感受性に富むバイオアッセイに用いうることを示した。ウサギ関節軟骨細胞による潜在プロテインナーゼの分泌の刺激は相対的にIL-1特異的、IL-2、TNF- $\alpha$ 、組換えヒトイソチフェロン- $\alpha$ 及び- $\gamma$ 、ホルボールミリストート酢酸、コンカナバリンA、E型プロスタグランジン及び影響のないインドメタシンである〔シュナイダー及びペイン、ブリティッシュ・ジャーナル・オブ・リューマトロジィ(Brit.J.Rheumatol.)24、(補遺1)128-132(1985)、シュナイダー等、ジャーナル・オブ・イムノロジィ(J.Immunol.)138、496-503(1987)〕。

【0042】軟骨細胞は記述されたように収集し、培養する〔エベクオズ等、バイオケミカル・ジャーナル(Biochem.J.)219、667-677(1984)〕。簡単に述べると、軟骨細胞は、約1.2kg雌ニュージーランド白ウサギの遠位大腿関節軟骨のスライスから、プロテインナーゼで処理することにより取りはずす。洗浄した細胞を、1%抗生物質、2mMグルタミン及び10%加熱不活性化ウシ胎児血清を強化したD MEM中、48-ウエル培養プレートで培養する。集合に達したのち、細胞をIL-1バイオアッセイ用に20 $\mu$ l試料の試験培養培地とインキュベートし、300 $\mu$ lイスコープの修飾ダブルベッコ培地の容量とする。48時間後上清培地を集め、遠心し、生化学分析に用いる。

#### 【0043】生化学アッセイ

メタロプロテインナーゼをパーソナルコンピュータに連結した96-ウエルプレートツインリーダー(フロー・ラボラトリーズAG)を用いることにより動態的に測定する。Ac-Pro-Leu-Gly-S-Leu-Leu-Gly-O-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、脊椎動物コラゲナーゼの合成基質をMPの測定に用いる〔ワインガーテン及びフェーダー、アナリ

ティカル・バイオケミストリィ、147、437-440(1985)〕。50 $\mu$ lの潜在MPを50 $\mu$ lトリプシン(20mM CaCl<sub>2</sub>を含有する50mM PIPES pH6.8中120 $\mu$ g/ml)で30分間37°Cで活性化し、その後で、全セリンプロテインナーゼの活性を150 $\mu$ l大豆トリプシン阻害剤(SBT I、上記緩衝液中166 $\mu$ l/ml)を加えることにより停止する。次いで活性MPの50 $\mu$ lアリコートを、100 $\mu$ l試薬溶液(上記緩衝液中、2.5mM 5,5'-ジチオービス-2-ニトロ安息香酸、DTNB、100 $\mu$ g/ml SBT I、20mM CaCl<sub>2</sub>)と混合し、10分間室温で放置し、全ての遊離SH-基と反応させる。次いで100 $\mu$ l基質溶液(100 $\mu$ g/ml SBT Iを含有する緩衝液中1.25mM)を加えることにより反応を開始し、414nmでの吸収の変化を1分間隔で1回測定する。

#### 【0044】3. 機能的IL-1拮抗作用

上記2)に記載した試験方法を繰り返すが、軟骨細胞培地にヒト単球を加える代わりに、IL-1自体(組換えヒトIL-1 $\beta$ 、サンド)を1ng/mlの濃度で加える。軟骨細胞培養媒体中のMP活性を2日後に検定する。本発明の化合物は1-30nMの濃度で機能的IL-1拮抗物質として活性である。

#### 【0045】4. LPS-熱

LPS-懸濁液(シグマ、No. L-5886、100 $\mu$ g/5mlグルコース溶液/kg s.c.)を雄ツトリンゲンSDラット(150-160g)に注射する。2時間後EL LAB遠隔温度計に連結したサーミスター直腸プローブを用い体温を測定する。4時間後、試験化合物を投与する。2時間後(LPS投与後6時間)温度を再び測定する。未処理のコントロールにより示される温度増加を100%とし、処理群のそれをこの値のパーセントとして表す。ED<sub>50</sub>は、コントロールラットで測定される温度増加の50%阻止を生ずる用量である。本発明の化合物は、典型的にはこのアッセイで約0.1ないし約1mg/kgのED<sub>50</sub>を有する。

【0046】ラットにおけるカラゲーナン誘発足浮腫  
5匹のOFA雄ラット、体重150-170gを各群に用いる。試験化合物を、カラゲーナン注射の1時間前に、生理食塩水/0.5%トラガント中の懸濁液として経口投与する。カラゲーナン(生理食塩水中1%懸濁液の0.1ml)を一方の後足に足底注射により与える。足の膨化をケンバー及びアメルムによる消炎測定器(antiphlogrometer)により測定する。コントロール記録は注射後、直ちに行い、膨化は3及び5時間後測定する。3及び5時間の記録の平均値はコントロール記録の削除後、取り、処理した動物から得た値は、未処理のコントロールから得た値のパーセントとして表す。ED<sub>50</sub>は3時間後、カラゲーナン誘発膨化の50%阻止を生ずる用量である。本発明の化合物はそのアッセイで典型的に、約0.1ないし約1mg/kgのED<sub>50</sub>を有する。

【0047】従って、本発明の化合物は、過剰のサイトカイン放出、特にIL-1 $\beta$ 放出と関連する又はそれを含む病の疾患、例えば種々の炎症状態及び疾病、例えばリューマチ様関節炎、骨関節炎、敗血症ショック、乾癬、アテローム性動脈硬化症、非特異性炎症性腸疾患、クローン病及び喘息の処置に必要である。

【0048】上記の使用に関し、必要な用量は、もちろん投与の方、処置されるための特別の条件及び所望される効果によって変わるであろう。しかしながら、一般に、約0.1ないし2.0mg/kg動物体重、特に0.5ないし5mg/kgの用量割合で十分な結果に達する。式I'の化合物はTHP-1試験(IL-1 $\beta$ の放出を50%阻止する化合物の濃度)で0.06μMのIC<sub>50</sub>値を有することが測定された。従って、本化合物は大型の動物、例えばヒトに8mgないし2gの1日用量で経口投与しうることを示す。

【0049】前述のように、本発明は又、

i) 過剰のサイトカイン放出、特にIL-1 $\beta$ 放出に関連する又はそれを含む病の疾患、例えばリューマチ様関節炎、骨関節炎、敗血症ショック、乾癬、アテローム性動脈硬化症、非特異性炎症性腸疾患、クローン病及び喘息のそれが必要な患者の処置方法であって、その方法は、患者に有効量の

a) 上で定義した通りの式Iの化合物、又は  
b) 式IIの化合物、(式中、R<sub>1</sub>はH又はメチルである、R<sub>2</sub>及びR<sub>3</sub>はH又はOHである、R<sub>4</sub>はH又はメトキシである、-a-b-は-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-又は-CH=CH-である、そしてcはC=O又はCH-OHである(式Iの化合物以外)、或は  
c) 式III(式中、RはH又はメチルである)の化合物を、遊離又は塩基塩形又はその生理的に加水分解可能で且つ許容しうるエステルで投与することを含む。

【0050】ii) 式II(式中、R<sub>1</sub>はメチルである、R<sub>2</sub>及びR<sub>3</sub>はH又はOHである、R<sub>4</sub>はH又はメトキシである、-a-b-は-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-又はシス-CH=CH-である、そしてcはC=O又はCH-OHである)の、医薬として使用するための、例えば上述した病のいずれかを処置するのに使用するための遊離塩基又は塩形、或は生理的に加水分解可能で且つ許容しうるエステルの化合物を提供する。

【0051】本発明の化合物は、全ての慣用経路により、特に経鼻的に、腸管経由で、好ましくは経口で、例えば錠剤又はカプセルの形で、又は非経口的に、例えば注射可能な溶液又は懸濁液の形で、又は座薬形で投与しうる。単位用量形は、例えば約2mgないし1gの本発明の化合物を含む。本発明は又、上記b)で定義した通りの有効量の式IIの化合物を製薬上許容しうる希釈剤又は担体と共に含む医薬組成物を提供する。

【0052】試薬用途に好ましい化合物は、式I'、I''、X、XI、XII及びXIIIの化合物である。

【0053】以下の実施例は本発明を示す。

#### 【0054】実施例1 発酵実施例

N R R L 18919の種培養を、脱イオン水中、2%麦芽エキス及び0.4%酵母エキスからなる無菌、液体培地11を含む21エーレンマイヤーフラスコ中に接種する。このエーレンマイヤーフラスコは、ロータリー攪拌器上で、200rpmで24°C、3日間インキュベートし、501発酵用の前培養として役立つ。この中間培養は、脱イオン水中2%麦芽エキス及び0.4%酵母エキスからなる501の無菌液体培地を含む751の発酵槽中で実施する。発酵の間、温度は25°Cで、攪拌速度は50rpmで、通気は501/分で、重圧は0.5バールで一定に保つ。前培養発酵は1日だけ続け、その後でより大きなスケールで最終発酵で接種するのに用いる。この製造培養は、脱イオン水中(g/1)20グルコース、2-大豆蛋白、2麦芽エキス、2酵母エキス、2KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>及び2MgSO<sub>4</sub>を含む31の無菌液体媒体を含む5000l発酵槽中で実施する。接種に先立ち、少量のメタノールに溶解した1mg/1のシクロスピロリンAを無菌媒体に加える。発酵の間、温度は25°Cで、攪拌速度は25rpmで、通気は30001/分で、そして重圧は0.5バールで一定に保つ。過剰の発泡は消泡剤を調節しつつ添加することにより防止する。本発明の化合物の生成はHPLCによりモニターし、生産培養を所望の代謝産物の最高タイマーの時に収集する。

#### 【0055】実施例2 代謝産物の分離

菌系を培養プロセスから分離し、上清(28001)を28001の酢酸エチルで抽出する。菌系を除く。酢酸エチル溶液を蒸発させて45-50°Cで真空中に乾燥する。目的の化合物は、51のメタノールに60°Cで抽出残渣(約1kg)を溶解し、得られる溶液を急速に冷却し、その後室温で20時間保持することによる抽出残渣からの結晶化によって直接得ることができる。得られる結晶(約250g)は沪過により分離し、メタノールに75°Cで溶解し、-25°Cで一夜再結晶する。結晶を吸引沪過し、冷メタノールで洗浄し、真空乾燥する。生成物は、[3S-(3R\*, 5Z, 8R\*, 9R\*, 11E)]-3, 4, 9, 10-テトラヒドロ-8, 9, 16-トリヒドロキシ-13, 14-ジメトキシ-3-メチル-1H[2]ベンズオキサシクロテトラデシン-1, 7(8H)-ジオンであり、以下の性質を有する白色針状形で得られる。融点170-172°C、 $[\alpha]_D^{20}=-43.1^\circ$  (c=0.49メタノール中)。

#### 【0056】実施例3 式I''の化合物の製造

式I''の化合物、[3S-(3R\*, 5E, 8R\*, 9R\*, 11E)]-3, 4, 9, 10-テトラヒドロ-8, 9, 16-トリヒドロキシ-13, 14-ジメトキシ-3-メチル-1H-2-ベンズオキシシクロテトラデシン-1, 7(8H)-ジオンを以下のように製造する。

【0057】実施例2の生成物(1g)を100mlピリ

ジンに溶解し、アルゴン雰囲気下50°Cで24時間、攪拌する。得られる黄色溶液を真空下に濃縮し、残渣を酢酸エチルに取り、1N酒石酸と共に振盪する。有機相を分離し、食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発させる。固体残渣を、移動相として酢酸エチルを用いるキーゼルゲル上クロマトグラフィにかけ、式I'の化合物を得る。融点171-173°C。NMR(CDCl<sub>3</sub>) : 1.47(d, 3H), 2.25-2.85(m, 4H), 3.60(s, 3H), 3.89(s, 3H), 4.17(m, 1H), 4.65(d, 1H), 5.40(m, 1H), 5.93(m, 1H), 6.45(s, 1H), 6.47(d, 1H), 6.33(dd, 1H), 7.00(dt, 1H), 11.21(s, 1H) ppm。

#### 【0058】実施例4 式Xの化合物の製造

実施例3と同様にして、式Xの化合物、[3S-(3R\*, 5E, 8R\*, 9R\*, 11E)]-3,4,9,10-テトラヒドロ-8,9,16-トリヒドロキシ-14-メトキシ-3-メチル-1H-2-ベンズオキサシクロテトラデシン-1,7(8H)-ジオンを得る。融点154-159°C。

#### 【0059】実施例5 式XIの化合物の製造

実施例8と同様にして、式XIの化合物、[3S-(3R\*, 5E, 8R\*, 9R\*, 11E)]-3,4,9,10-テトラヒドロ-8,9-ジヒドロキシ-13,14,16-トリメトキシ-3-メチル-1H-2-ベンズオキサシクロテトラデシン-1,7(8H)-ジオンを以下のNMRスペクトルを有する発泡体として得る。NMR(CDCl<sub>3</sub>) : 1.4(d, 3H); 2.2-3.0(m, 5H), 3.61(s, 3H), 3.78(s, 3H); 3.83(s, 3H); 3.7-4.15(m, 2H), 4.75(d, 3H); 2.2-3.0(m, 1H); 6.15(d, 1H), 6.31(d, 1H), 6.38(s, 1H); 7.85(m, 1H) ppm。

#### 【0060】実施例6 式XIIIの化合物の製造

##### a) ペント-1-エン-5-オン

100mlのジクロロメタン中10g(100mモル)の5-ヒドロキシペント-1-エンをジクロロメタン中43gのビリジニウムクロロクロマートの懸濁液に室温で加える。1/2時間後、ジエチルエーテルを加え、懸濁液をシリカゲルを済過させ、固体残渣をジエチルエーテルで数回洗浄し、これは又、シリカゲルを済過させ、そしてジエチルエーテルフラクションを混合し、ゆっくり蒸発させて7gの粗ペント-1-エン-5-オンを得る。

##### 【0061】

##### b) 4-トリメチルシリコキシヘクス-1-イン

100mlのアセトニトリル中、8.1gの4-ヒドロキシヘクス-1-イン、16gのt-ブチルジメチルシリクロリド及び7.2gのイミダゾールの混合物を室温で一夜攪拌し、その後でジエチルエーテルを加え、懸濁

液はシリカゲルを済過させる。次いで済液を蒸発させて残渣を水ポンプ真空下70°Cで蒸留し、17.8g(93%)の表題生成物を得る。

【0062】c) 2-トリメチルシリコキシ-7-ヒドロキシ-ウンデカ-4-イン-10-エン  
ブチルリチウムの溶液(37ml)を、20mlのテトラヒドロフラン中、上記b)部分の生成物13.8gの溶液に-78°Cで滴下し、混合物を-78°Cで11/2時間攪拌する。次いで10mlのテトラヒドロフラン中上記a)部分のアルデヒド生成物6.0gの溶液をゆるやかに加え、混合物を-78°Cで1時間攪拌し、次いで室温まで加温する。次いで水を加え、混合物を酢酸エチルで抽出し、有機相を乾燥し、済過し、蒸発させて13.1g(72%)の表題生成物を不純の形で得る。

##### 【0063】d) 2-トリメチルシリコキシ-7-ヒドロキシ-ウンデカ-シス-4,10-ジエン

300mlのビリジン中、上記c)部分の生成物10.1gの溶液に、BaSO<sub>4</sub>中、10%パラジウムの1gを加え、混合物を室温で水素添加する。24時間後、420mlの水素を吸収し、さらに24時間後720mlの水素を吸収する。次いで混合物をハイフロ上で吸引済過し、結晶を除去し、生成物を濃縮し、酢酸エチルに溶解し、10%クエン酸溶液及び飽和食塩水で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥して濃縮する。この時点では、薄層クロマトグラフィは、わずか1.5%の出発物質が変換したこと示すに過ぎない。そこで生成物を300mlのビリジンに再び溶解し、BaSO<sub>4</sub>中10%パラジウムの1.5gを加えて、混合物を室温で攪拌しながら水素添加する。6時間後、700mlの水素が吸収されたことが判る。生成物(10.2g)は、薄層クロマトグラフィにより判断されるように約90%変換していることが判る。

##### 【0064】e) 2-トリメチルシリコキシ-7-{(2-メトキシ)エトキシ}メトキシ-ウンデカ-シス-4,10-ジエン

10gの上記d)部分の表題生成物を、室温で攪拌しながら80mlのジクロロメタンに溶解し、8.5mlのジイソプロピルエチルアミンを1分間で滴加し、次いで20mlのジクロロメタン中5.7mlの1-クロロメチル-2-メチル-グリコールを10分間で滴加する。2時間後、薄層クロマトグラフィにより測定されるように反応が完了する。反応混合物を10%NaHCO<sub>3</sub>、10%クエン酸溶液及び飽和食塩水で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、濃縮して粗形態で、1.4gの表題生成物とする。生成物をシリカゲルクロマトグラフィ(ヘキサン/ジエチルエーテル8:1)により精製し、10.5g(83%)を得る。

##### 【0065】f) R<sub>4</sub>がHであり、R<sub>5</sub>及びR<sub>6</sub>がMeOであり、-a-b-がシス-CH=CH-であり、-d-e-が-C<sub>2</sub>H-CH<sub>2</sub>-であり、-f-g-がトランス-CH=CH-である式IVの化合物

90mlのトリエチルアミンをアルゴン雰囲気下に搅拌し、これにR<sub>4</sub>がHであり、R<sub>5</sub>及びR<sub>6</sub>がMeOでありR<sub>12</sub>がMeである式Vの化合物7.5gを加え、次いで10.8gの上記e)段階で得られる生成物、0.104gのパラジウムアセタート、0.564gのトリオートリルホスフィン及び3.9gの酢酸銀を加える。混合物を搅拌しながら油浴で80°Cに加温し、60時間後さらに0.104gのパラジウムジアセタートと0.564gのトリオートリルホスフィンを加えて反応をさらに48時間続け、この時点で反応は、薄層クロマトグラフィにより測定されるように完了する。生成混合物を濃縮し、酢酸エチルで処理し、ハイフロに吸引することにより不溶残渣を除去する。溶液を濃縮して中間体トリメチルシリキシ（R<sub>12</sub>がMeである生成物）をシリカゲルクロマトグラフィ（ヘキサン／酢酸エチル4：1）により精製して約1.4gの収量を得る。

【0066】50mlのDMSO及び30mlの水に5.1gのNaOHを溶解し、7.44gの上記中間生成物を加え、混合物を油浴中で搅拌しながら4時間100°Cに加熱する。次いで混合物を冷却し、水に希釈し、エーテルで3回洗浄し、氷で冷却し、2NHC1でpH3に調節する。次いで生成物を酢酸エチルで3回抽出し、飽和食塩水で2回洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、濃縮し、高真空中で乾燥して6gの表題生成物を得る（m/z：453(MH+)、348(60)、329(100)、285(60)、207(60)）。

#### 【0067】g) 式XIIIの化合物

上記段階f)の生成物5.4gを3.51のテトラヒドロフランに室温で搅拌しながら加える。18.7mlのジエチルアゾジカルボキシラート、次いで31.3gのトリフェニルホスフィンを加え、混合物を油浴中で50°Cに加温し、一夜反応させる。生成混合物を濃縮し、残渣を2本のAl<sub>2</sub>O<sub>3</sub>カラム及びヘキサン／酢酸エチル（2：1）による溶出用いて精製する。第一カラムからのフラクション6-1及び第二カラムからのフラクション7-20を集めて5gの粗組成物を得、これをシリカゲルクロマトグラフィによりさらに精製して、3.2g（62%）の純粋な樹脂状中間生成物を得、これは、cがCH-OCH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>保護形である式XIIIの化合物に対応する生成物である。

【0068】この中間生成物を酸で処理することにより、cがCHOHである次の中間体生成物に変換する。5.2gの上記中間生成物を12mlのテトラヒドロフランに溶解し、10mlの1N HClを加えて45°Cで24時間搅拌し、次いで酢酸エチルで3回抽出し、飽和食塩水及びNaHCO<sub>3</sub>溶液で洗浄する。酢酸エチル相をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、濃縮してシリカゲルクロマトグラフィ（ヘキサン／酢酸エチル1：1）により精製して約3.4gの粘着性の次の中間生成物を得る。

【0069】2mlのジクロロメタンを室温で搅拌し、7

6μlの塩化オキサリルを加え、混合物を-60°Cに冷却し、1mlのジクロロメタン中0.13mlのDMSOの溶液を3分間で滴下する。ガスの発生が3分間続き、その後で3mlのジクロロメタン中280mgの上記次の中間生成物の溶液を5分間で滴下し、その間に沈澱が生成する。混合物をさらに15分間搅拌した後、0.56mlのトリエチルアミンを5分間で添加し、得られるペースト状の沈澱を室温で集積させる。ペーストをジクロロメタンで抽出し、有機相を10%クエン酸で2回、飽和食塩水で2回洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィ（ジクロロメタン）により精製して式XIIIの表題生成物を純粋な形で得る。純粋生成物は以下の性質を有する。融点159°C、m/z：344(M+)、217(80)、189(60)、178(100)、95(60)。

#### 【0070】実施例7 式XIIの化合物の製造

a) cがCH-OCH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>である式XIIの化合物の類似体  
2.9gのヨウ素及び0.55gのマグネシウムを20mlのジエチルエーテルに加え、発熱反応が完了し、褐色が消えるまで搅拌する。シリソジにより得られる溶液11gを取り、上記実施例6の段階g)の第一中間体生成物1.64gのベンゼン溶液に10分間で滴下する。黄色沈澱が形成し、混合物を油浴中で加温し、この温度で1/2時間搅拌し、次いで室温で一夜搅拌する。次いで生成物を酢酸エチルで2回抽出し、NaHCO<sub>3</sub>及び飽和食塩水で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィ（ヘキサン／酢酸エチル7：3）により精製して1.6gの表題生成物を純粋形で得る。

#### 【0071】

b) cがCHOHである式XIIの化合物の類似体  
本実施例の段階a)の生成物510mgを12mlのテトラヒドロフランに溶解し、10mlの1N HClを加えて、混合物を45°Cで24時間搅拌する。生成混合物を酢酸エチルで3回抽出し、飽和食塩水及びNaHCO<sub>3</sub>で洗浄する。酢酸エチル相をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、濃縮してシリカゲルクロマトグラフィ（ヘキサン／酢酸エチル1：1）により精製して330mgの粘着性の表題生成物を得る（m/z：332(M+)、314(10)、203(75)、190(55)、164(60)）。

#### 【0072】c) 式XIIの化合物

段階b)の生成物280mgを、室温で搅拌しながら10mlのジクロロメタンに溶解し、475mgのピリジニウムジクロマートを加えて混合物を室温で一夜搅拌する。終了後、さらに158mgのピリジニウムジクロマートを加えて混合物を再び一夜、さらに24時間室温で搅拌する。得られる生成溶液を、ハイフロ沪過により固体の副生成物と分離し、クロマトグラフィ（ジクロロメタンによる溶出）により生成して表題生成物を純粋形で得る

(融点137°C、m/z: 330 (M+)、312 (20)、202 (100)、175 (75))。

【0073】実施例8 R<sub>4</sub>がHであり、R<sub>5</sub>及びR<sub>6</sub>がOMeであり、-a-b-がシス-CH=CH-であり、cがC=Oであり、そして-d-e-及び-f-g-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-である式Iの化合物  
a) 4-ジメチル、t-ブチルシリルオキシペント-1-イン

17.8 gの(±)-4-ペンチナ-2-オールを室温で攪拌しながら150 mlのアセトニトリルに溶解し、15.8 gのイミダゾール次いで35 gのジメチル、t-ブチルシリルクロリドを加えると発熱反応が生じ、これにより反応混合物の全成分はまず溶液となるが、その後沈澱が直ちに形成する。混合物を室温で一夜攪拌し、その後吸引沪過し、液体区分を濃縮し、さらに2.9 gのイミダゾールと6.3 gのジメチル、t-ブチルシリルクロリドを加える。3時間後、反応混合物を再び吸引沪過し、液体区分を濃縮して分別蒸留に付す。表題生成物は初めの三つのフラクションに存在し、これを混合し、生成物を減圧(12 mmHg)で64-68°Cで蒸留することにより精製する。

【0074】b) R<sub>4</sub>がHであり、R<sub>5</sub>及びR<sub>6</sub>がOMeであり、R<sub>12</sub>がMeである式VIIの生成物

式Vの対応する化合物14.6 g、本実施例a)の生成物14.6 g、0.3 gのパラジウムジアセタート、1.1 gのトリオートリルホスフィン及び7.6 gの酢酸銀を60 mlのテトラヒドロフランに加え、混合物を油浴中で攪拌しながら70°Cに加温する。48時間後(この時点で反応は、薄層クロマトグラフィにより測定して約70%完了している)、さらに0.3 gのパラジウムジアセタートと1.1 gのトリオートリルホスフィンを加えて混合物を70°Cで週末に渡って加温する。次いで混合物はハイフロを吸引沪過させ、高真空中に濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィ(ヘキサン/酢酸エチル4:1)により精製して、第一の中間生成物、即ちR<sub>6</sub>=O Me、R<sub>5</sub>=OMe、R<sub>4</sub>=H、R<sub>12</sub>=MeそしてC<sub>6</sub>側鎖のアルデヒド基がジメチル、t-ブチルシリル保護OH基である式VIIの対応する化合物の類似体を得る。

【0075】この第一の中間生成物6.7 gを100 mlのメタノールに溶解し、10%パラジウムを含むパラジウム/木炭触媒(Pd/C 10%)を加えて混合物を48時間攪拌下に水素添加する(初めの24時間後、350 mlのH<sub>2</sub>を吸収している)。次いで反応混合物はハイフロを吸引沪過させ、濃縮する。この段階でC<sub>6</sub>側鎖二重結合はNMRによる測定ではわずかに30%還元されていることが判る。従って反応生成物を再び150 mlのメタノールに取り、500 mgのPd/C 10%触媒を加えて混合物を室温で週末に渡って水素添加する。得られる反応混合物はハイフロを吸引沪過させ、濃縮し、第二中間生成物、即ちC<sub>6</sub>側鎖のアルデヒド基がOH基

である式VIIの対応する化合物の類似体を、シリカゲルクロマトグラフィ(ヘキサン/酢酸エチル2:1)により、対応するシロキシ保護化合物と4.9 gの収量で分離する。

【0076】1.2 mlの塩化オキサリルを30 mlのジクロロメタンに室温で攪拌しながら加え、混合物を-60°Cに冷却して7 mlのジクロロメタン中1.9 mlのDMSOを5分間に滴下し、その後で混合物をさらに3分間攪拌し、20 mlのジクロロメタン中、本実施例の第二中間生成物3.5 gの溶液を10分間に滴下する。沈澱が形成し、混合物をさらに20分間攪拌し、濃縮して8.2 mlのトリエチルアミンを5分間に添加する。粘着性ペースト沈澱が形成し、室温で1.5時間集合させる。固体生成物をジクロロメタンで抽出し、10%クエン酸溶液で2回、飽和食塩水及びNaHCO<sub>3</sub>で各1回洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、濃縮して3.6 gの表題生成物をゴムの形で得る。

【0077】c) R<sub>4</sub>がHであり、R<sub>5</sub>及びR<sub>6</sub>がOMeであり、-a-b-がシス-CH=CH-であり、-d-e-及び-f-g-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-であり、そしてR<sub>11</sub>がHである式IVの生成物

本実施例の段階a)の生成物0.39 gを窒素雰囲気下、5 mlのテトラヒドロフランに加え、1.2 mlのブチルリチウムを-70°Cで2分間に滴下する。1時間後、4 mlのテトラヒドロフラン中、本実施例の段階b)の最終生成物0.5 gの溶液を5分間に滴下し、混合物を-70°Cで1.5時間攪拌し、次いで室温まで加温する。この時点で、反応は薄層クロマトグラフィにより測定して完了している。水で冷却しながら、生成物を10%クエン酸溶液で洗浄し、酢酸エチルで3回抽出し、飽和食塩水及びNaHCO<sub>3</sub>で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、濃縮して0.87 gの樹脂質第一中間生成物、即ち、CO OH置換基がメトキシエステルの形で存在し、式Iの化合物の-a-b-結合に対応する結合がアセチレン結合であり、そしてC<sub>11</sub>側鎖のC<sub>10</sub>炭素原子のOH置換基がt-ブチルシリル保護されている、式IVの対応する化合物の類似体を得る。

【0078】3.1 gのこの第一の中間生成物を50 mlのピリジンに溶解し、200 mgの10%Pd/BaSO<sub>4</sub>を加えて混合物を室温で磁気攪拌しながら水素添加する。4時間後、理論水素所要量(240 ml)より大が吸収される。次いで得られる生成物をサンプリングし、濃縮し、ジクロロメタンに取り、10%クエン酸溶液で洗浄する(この時点で、反応はNMRにより完了していることが判る)。生成物はハイフロを吸引沪過することにより触媒と分離し、濃縮し、酢酸エチルに取り、飽和食塩水で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、濃縮して3.05 gの樹脂質第二中間生成物、即ち、式Iの化合物の-a-b-結合に対応する結合がシス-CH=CH-である、本段階の第一中間生成物の類似体3.05 gを得る。

【0079】実施例6の段階f)と同様の方法により、本段階の第二中間生成物を表題生成物 ( $m/z$ : 367 ( $MH^+$ )、349 (40)、331 (100)、305 (90)、191 (100))に変換する。

【0080】d)  $R_4$ がHであり、 $R_5$ 及び $R_6$ がOMeであり、-a-b-がシス-CH=CH-であり、cがC=Oであり、そして-d-e-及び-f-g-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-である式Iの化合物

上記段階c)の最終生成物1.7gを1.81のアセトニトリルに搅拌しながら溶解し、5.9gの2-クロロピリジンヨード及び6.5mlのトリエチルアミンを加えて混合物を油浴中で搅拌しながら週末に渡って50°Cに加温する。次いで生成物を濃縮し、酢酸エチルに取り、10%クエン酢酸溶液、NaHCO<sub>3</sub>及び饱和食塩水で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、濃縮して、1.6gの粗製中間生成(即ち、cがCHOHである表題生成物の類似体)を褐色樹脂の形で得る。この粗生成物を、中間生成物を溶解するためジクロロメタンを用い、シリカゲルクロマトグラフィ(ヘキサン/酢酸エチル3:2)により精製する。

【0081】2mlのジクロロメタンに室温で5μlの塩化オキサリルを加え、混合物を-70°Cに冷却し、ジクロロメタン1ml中DMSO 93μlの溶液を搅拌しながら3分間に滴下する。混合物をさらに5分間搅拌し、その後で本段階の中間生成物0.2gの溶液を5分間に滴下する。沈澱が形成し、混合物をさらに15分間搅拌し、0.4mlのトリエチルアミンを5分間に滴下し、混合物を1時間-70°Cで搅拌し、次いで1時間で室温まで加温する。得られる生成混合物をジクロロメタンで希釈し、10%クエン酸溶液で2回、饱和食塩水で1回洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィ及び再結晶により精製して約100mgの純粹生成物(融点110°C)を得る。

【0082】実施例9  $R_4$ 及び $R_6$ がHであり、 $R_5$ がOMeであり、-a-b-がトランス-CH=CH-であり、cがC=Oであり、-d-e-及び-f-g-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-である式Iの化合物35mgのマグネシウムを1mlのジエチルエーテル及び1mlのベンゼンと共に搅拌し、0.18gのヨウ素を加え、暗褐色が1.5時間後に消失する。得られる混合物の溶液相をベンゼン2ml中、実施例6の最終生成物50mgの溶液に加え、その間に沈澱の形成を伴う。混合物を60°Cで2.5時間搅拌し、生成物を酢酸エチルに取り、1N HCl、饱和NaHCO<sub>3</sub>及び饱和食塩水で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィ(トルエン/メタノール98:2)により精製する。生成物をシリカゲルカラム(ヘキサン/酢酸エチル3:2)で精製し、約30mgの純粹な表題生成物を油の形で得る( $m/z$ : 333 ( $MH^+$ )、315 (80)、265 (100)、177 (90))。

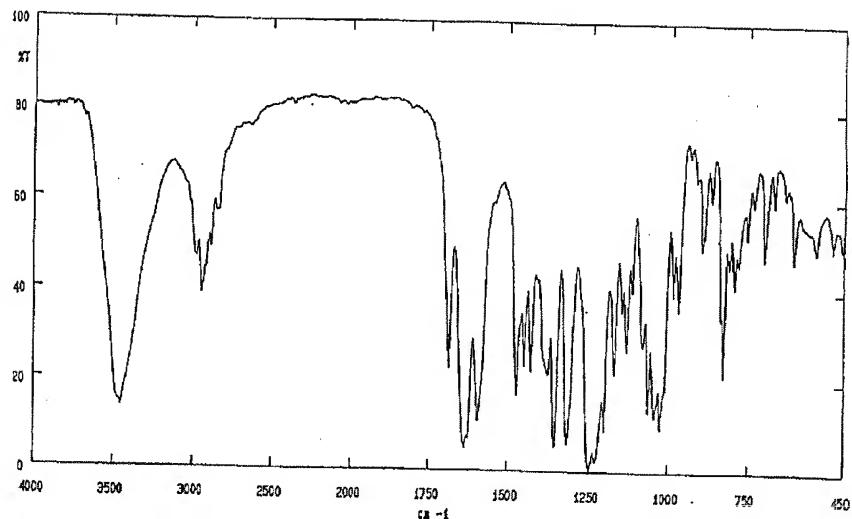
【0083】実施例10  $R_4$ がHであり、 $R_5$ 及び $R_6$ がOMeであり、-a-b-がトランス-CH=CH-であり、cがC=Oであり、-d-e-及び-f-g-が-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-である式Iの化合物実施例3及び9と同様の方法により、表題生成物を、-a-b-がシス-CH=CH-である対応する生成物から製造する、即ち実施例の最終生成物は-a-b-結合の異性化による。表題生成物は油の形で得られる( $m/z$ : 346 ( $M^+$ )、205 (50)、191 (100)、178 (40)、152 (40)、95 (55))。

#### 【図面の簡単な説明】

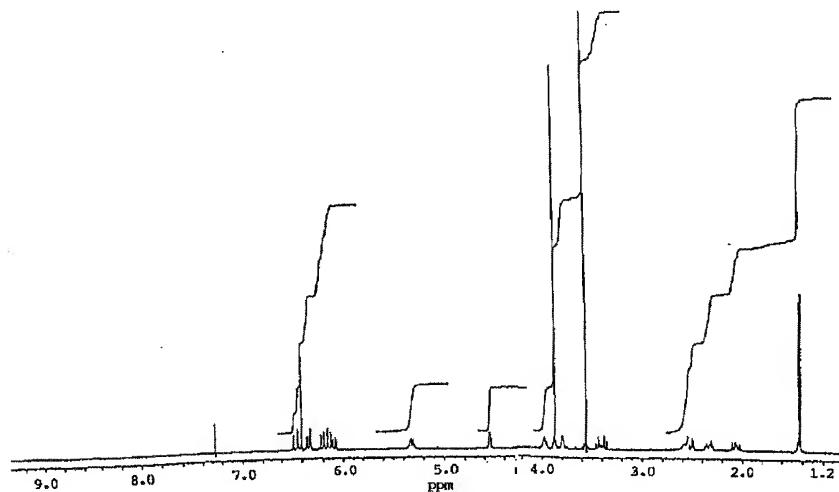
【図1】 式I'の化合物の赤外線吸収スペクトルである。

【図2】 式I'の化合物の陽子NMRスペクトルである。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(72)発明者 アンドリュー・ローランド・マッケンジー  
スイス、ツェーハー-3251ヴェンギ・バ  
イ・ビューレン、ティーアガルテン27ベ  
番

(72)発明者 イエルク・シュナイダー  
スイス、ツェーハー-3006ベルン、ホーフ  
マイスター・シュトラーセ18番

(72)発明者 レネ・パウル・トラーバー  
スイス、ツェーハー-4052バーゼル、ヒル  
ツボーデンパルク20番

(72)発明者 アンリ・マット  
フランス、エフ-68200ブルンシュタット  
リュ・ダンベルク67番